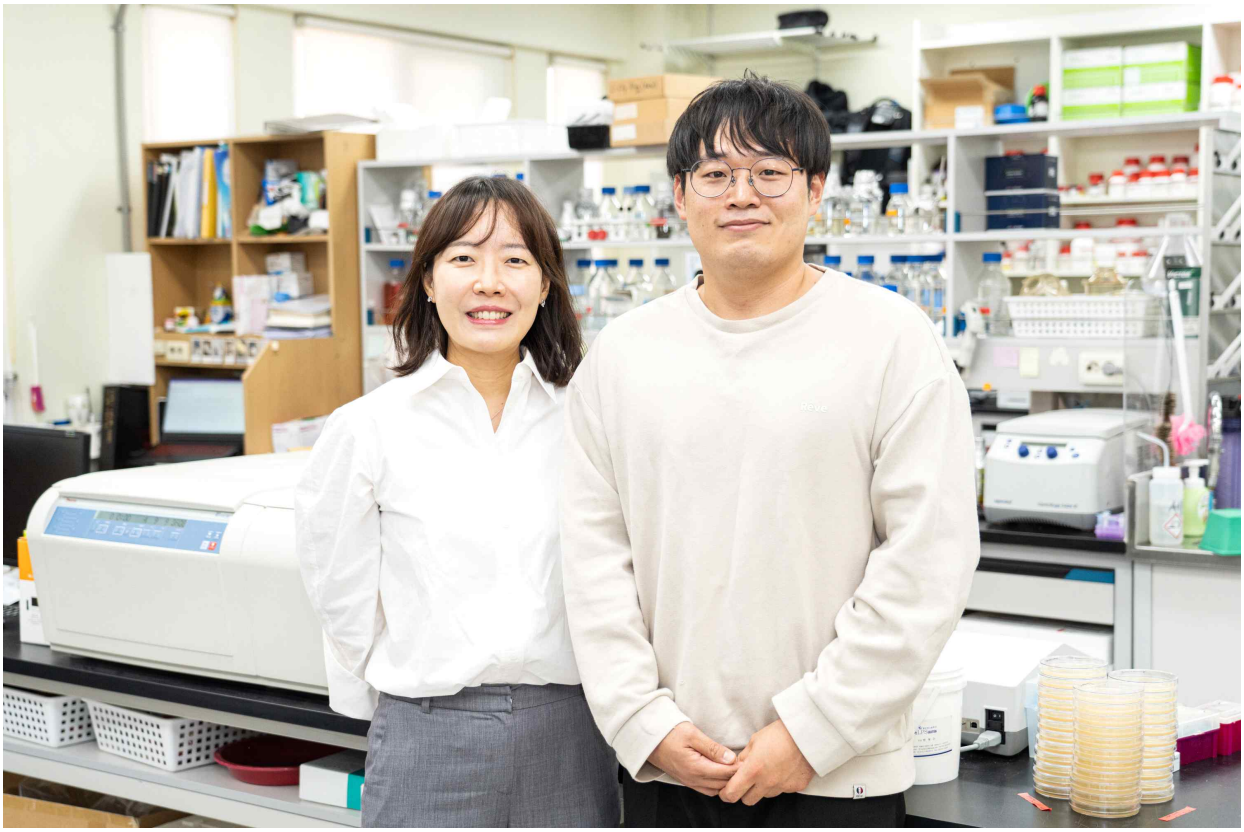
펩타이드 수송 단백질의 새로운 메커니즘 규명

- 초저온 전자현미경을 통한 펩타이드 수송 단백질 TAPL의 3가지 구조 규명
- 진미선 교수팀, TAPL의 인지질 수송 능력 세계 최초 확인...Nature Comm. 게재



▲ (왼쪽부터) 연구책임자 진미선 교수, 제1저자 박준규 학생

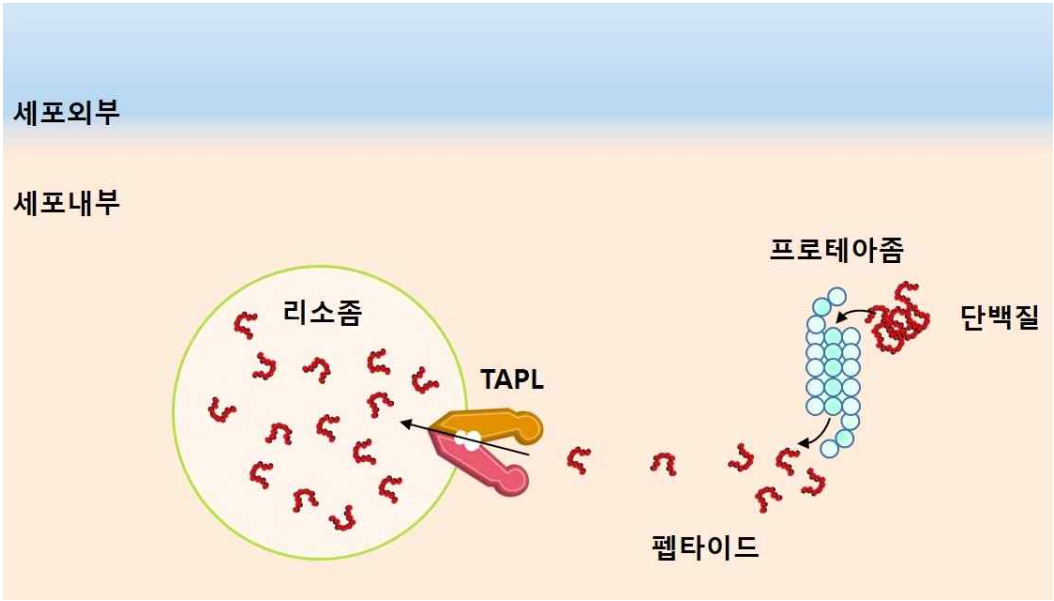
지스트 진미선 연구팀(광주과학기술원, 총장 김기선)이 **퇴행성 뇌질환이나 대사질환 등의 발병에 관여하며 세포 내 불필요한 펩타이드를 운반하는 단백질 TAPL이 세포 내 지질 수송 기능을 가지고 있음**을 세계 최초로 규명했다.

이번 성과는 **TAPL을 표적으로 하는 신약후보물질을 발굴하는 데** 필요한 핵심 정보를 제공할 것으로 기대된다.

TAPL은 체내에서 세포막 내외로 다양한 물질(예: 당, 비타민, 호르몬, 대사산물, 항생제, 항암제 등)을 수송하는 단백질인 'ABC 트랜스포터'(총 48개)의 일종으로, **ABC 트랜스포터의 돌연변이나 기능 이상은 다양한 난치성 질환(암, 대사질환, 퇴행성 뇌질환, 저혈당증 등)의 주요 원인**으로 보고되고 있다.

TAPL은 펩타이드를 리소좀*으로 운반하는 수송체인데, 운반된 펩타이드는 여러 효소에 의해 아미노산으로 분해되어 에너지 생성 및 단백질 합성에 재사용된다[그림 1]. 이런 **TAPL의 기능 이상은 세포 내 펩타이드의 과도한 축적을 유발해 다양한 암이나 대사질환, 퇴행성 뇌 질환의 발병에 영향**을 줄 수 있다.

* **리소좀**: 리소좀 내부는 산성화(pH4.5-5.0) 되어 있으며 여러 가지 분해 효소를 가지고 있기 때문에 세포 내 불필요한 단백질, 세포 외부에서 유입된 물질, 손상된 세포 소기관 등을 제거해주는 기능을 한다.



[그림1] TAPL의 펩타이드 수송 모식도

이러한 중요성 때문에 TAPL의 존재가 처음 알려진 후 수많은 연구가 이루어져 왔으나, TAPL의 단백질 구조를 파악하기 위해 필수적인 단백질 결정화(crystallization)*의 과정이 매우 까다로워 세포 내 펩타이드 수송 메커니즘 연구에 큰 걸림돌이 되어 왔다.

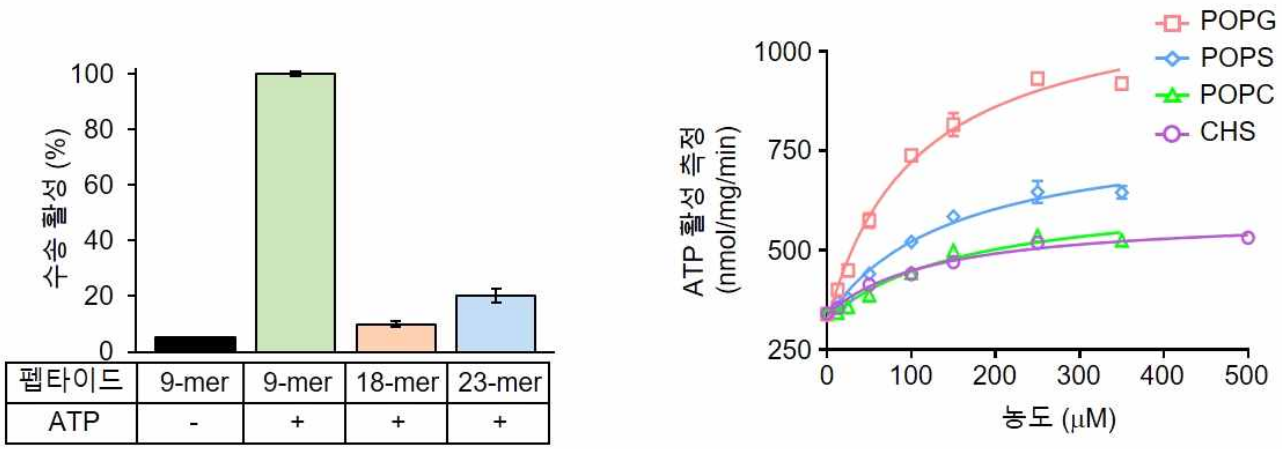
* **결정화(crystallization)**: 단백질을 특정 용액에 넣고 일정 시간이 지나게 되면 단백질 입자들이 규칙적으로 배열이 되는데 이것을 '단백질 결정화'라고 한다. 이렇게 형성된 결정은 방사선 가속기를 이용한 X-선 결정학 기법을 이용하며, 이와 같은 기법은 오랜 시간 동안 단백질의 분자 구조를 규명하는 주된 방법이었다. 이 방법을 통해 1957년부터 약 60여 년간 수많은 중요한 발견과 발전을 이루어 왔으나 단백질의 결정화 과정이 반드시 필요하다는 단점도 존재하였다. 또한, 결정 상태에서 구한 단백질의 구조는 세포 내에 있는 단백질의 구조와 다를 수 있다는 가능성도 항상 제기되어 왔다.

지스트 **생명과학부 진미선 교수 연구팀**은 결정화 과정 없이도 단백질 구조 규명이 가능한 **초저온 전자현미경*을 이용**해 수송 사이클 동안 TAPL이 갖는 여러 구조 규명에 성공했으며, 이를 통해 **TAPL이 펩타이드뿐만 아니라 인지질 수송에도 관여함**을 세계 최초로 규명했다.

세포막은 외막과 내막의 이중막으로 되어있는데, 외막의 지질을 내막으로 혹은 내막의 지질을 외막으로 수송하는 것을 '인지질 수송'이라고 한다. 이 수송 기능에 이상이 생기면 알츠하이머와 같은 퇴행성 뇌질환 혹은 비만, 지방간 등의 대사질환이 발생할 수 있다.

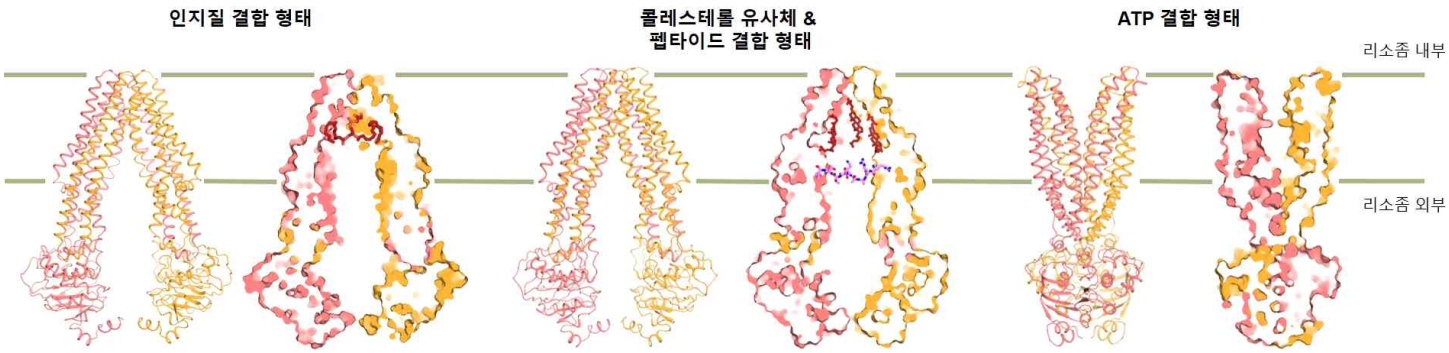
* 초**저온 전자현미경(cryo-EM)**: 생체시료(단백질, 미생물, 세포 등)를 급격하게 냉동시켜 최대한 자연 상태 그대로 유지하며, 투과 전자현미경(TEM)을 통해 관찰한 후 3차원 입체구조를 분석하는 기술. 2017년 노벨화학상을 수상한 Cryo-EM 기술은 최근 코로나-19 관련하여 바이러스 구조, 세포 수용체 등 중요한 생체분자의 구조정보를 제공하는 등 세계적으로 빠르게 보급되고 있는 혁신적인 단백질 구조분석 기술임

연구팀은 **TAPL의 펩타이드 길이에 따른 수송 능력의 차이뿐만 아니라 인지질에 의한 ATP 분해 활성 증가를 확인**했다[그림2].



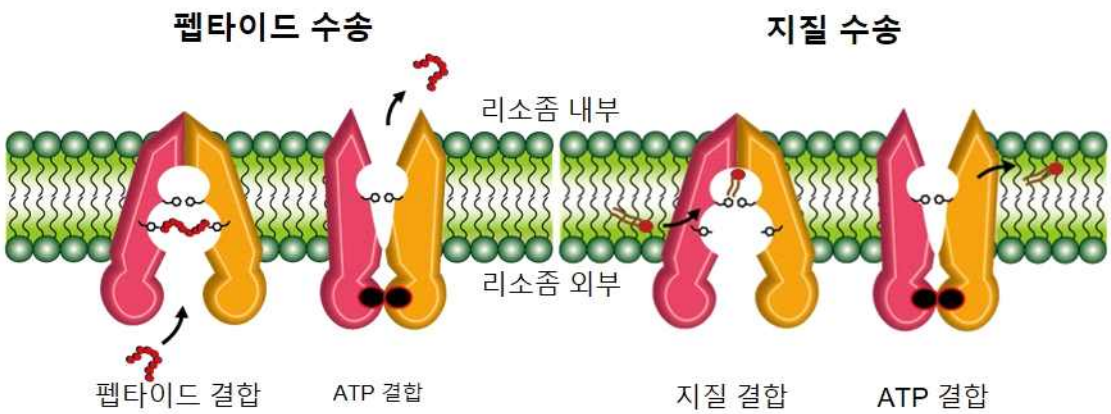
[그림2] TAPL의 펩타이드 길이에 따른 수송 활성 측정 및 인지질 첨가에 따른 ATP 가수분해 활성 측정 결과. (가) TAPL은 펩타이드가 9개의 아미노산으로 이루어졌을 때 가장 높은 수송 활성을 보여주었음. (나) 다양한 인지질에서 TAPL의 ATP 분해활성 증가를 확인함.

TAPL의 구조 분석 결과, 기질결합부위에는 소수성 잔기가 주로 분포되어 있는 부분(위쪽)과 친수성 잔기가 주로 분포(아래쪽)된 두 부분으로 나뉘며, 각각 인지질과 펩타이드가 결합하고 있는 것을 확인했다[그림3].



[그림3] 수송 싸이클 동안 기질 및 ATP 결합에 따른 TAPL의 구조 변화. (가) TAPL-인지질 결합 구조. (나)TAPL-콜레스테롤 & 펩타이드 결합구조. (다) TAPL-ATP 결합 구조

또한 ATP가 결합하게 되면 TAPL의 기질결합부위가 세포질에서(inward-facing)에서 리소좀 안쪽(outward-facing)으로 향하는 구조 변화가 일어나게 되어 기질이 수송됨을 확인하였다[그림4].



[그림4] TAPL의 기질 수송 메커니즘 모식도. TAPL의 구조 분석 결과, 기질결합부위에는 소수성 잔기가 주로 분포되어 있는 부분 (위쪽)과 친수성 잔기가 주로 분포 (아래쪽)된 두 부분으로 나뉘며, 각각 인지질과 펩타이드가 결합하고 있는 것을 확인함. ATP가 결합 하게 되면 TAPL의 기질결합부위가 세포 안쪽 (inward-facing)에서 바깥쪽 (outward-facing)으로 향하는 구조 변화가 일어나게 되어 기질이 수송 될 것으로 예상됨. 그 후에 ATP 가수 분해가 일어나면 기질결합부위가 다시 세포 안쪽으로 향하게 되어 다음 수송을 가능하게 함.

이번 TAPL 구조 및 기능 연구를 통해 연구팀은 (1) **TAPL이 2개의 서로 다른 작동 메커니즘을 통해 펩타이드뿐만 아니라 인지질 수송에도 관여한다는 가설을 증명**하였고, **(2) 수송 사이클 동안** 기질 및 ATP 결합으로 인한 **TAPL의 구조 전이 과정을 분자 수준**에서 밝혀냈으며, (3) 향후 **TAPL이 암, 대사질환, 퇴행성 뇌질환 치료를 위한 표적 단백질로 고려될 수 있는 가능성**을 제시했다.

진미선 교수는 "이번 연구를 통해 TAPL의 기능적 다양성에 대한 새로운 통찰력을 제공할 수 있었을 뿐만 아니라 향후 TAPL을 표적으로 하는 **신약후보물질을 발굴하는 데** 필요한 핵심 정보를 제공할 수 있을 것으로 기대된다"고 말했다.

이번 연구는 **과학기술정보통신부 바이오의료기술개발사업**의 지원을 받아 수행되었으며, **국제학술지인 '네이쳐 커뮤니케이션(Nature communications)'**에 2022년 10월 4일(화) 온라인 게재됐다.

논문 관련 정보

- 저널명 : Nature communications (IF 17.764, 2022)
- 논문명 : The lysosomal transporter TAPL has a dual role as peptide translocator and phosphatidylserine floppase
- 저자 정보 : 박준규(제1저자, GIST 석박통합과정), 진미선(교신저자, GIST 교수)